UNTERSUCHUNGEN ZUR NEPHROTOXIZITÄT DER CEPHALOSPORINE CEFRADIN UND LAMOXACTAM DURCH MESSUNG DER ALANIN – AMINO – PEPTIDASE – AKTIVITÄT IM HARN

Christiane Rosefeldt

1983

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang
Goethe-Universität Frankfurt am Main

Untersuchungen zur Nephrotoxizität der Cephalosporine Cefradin und Lamoxactam durch Messung der Alanin-Amino-Peptidase-Aktivität im Harn

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Christiane Rosefeldt

aus

Eutin/Holstein

Frankfurt am Main

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan : Prof. Dr.med. H.J. Müller

Referent : Prof. Dr.med. A.W. Mondorf

Korreferent: Prof. Dr.med. H. Glätzner

Tag der mündlichen Prüfung: 26.1.1983

Druck: Dipa - Druck, 6000 Frankfurt, Tel. 55 61 88

Danksagung

Herrn Prof. Dr.med. A.W. Mondorf, Leiter der Medizinischen Poliklinik und des Immunologischen Labors der Abteilung Nephrologie der Universitätskliniken Frankfurt am Main, danke ich herzlich für die Ueberlassung des Themas und für seine freundliche Unterstützung.

Frau H. Müller danke ich für die Einarbeitung in enzymatische und immunologische Untersuchungsmethoden.

Frankfurt am Main, im April 1982

Uebersicht

		Seite
1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Die untersuchten Cephalosporine	6
2.1	Ueberblick über die Entwicklung der Cephalosporine	6
2.2	Cefradin	10
2.3	Lamoxactam	13
3.	Versuchsteilnehmer und Versuchsablauf	16
3.1	Versuchsteilnehmer	16
3.2	Versuchsablauf und allgemeine Voruntersuchungen	16
3.3	Analysemethoden	18
3.3.1	AAP-Bestimmung durch enzymatische Messungen	18
3.3.2	Immunologische Methode zum Nachweis der AAP	21
4.	Ergebnisse	24
4.1	Normalausscheidung der Alanin-Amino-Peptidase (AAP)	24
4.2	Cefradin-Studie	25
4.2.1	Verhalten der Alanin-Amino-Peptidase unter Cefradin	25
4.2.2	Harnvolumina und endogene Kreatinin-Clearence unter Cefradin	29
4.3	Lamoxactam-Studie	32
4.3.1	Verhalten der Alanin-Amino-Peptidase unter Lamoxactam	32
4.3.2	Harnvolumina und endogene Kreatinin-Clearence unter Lamoxactam	37
4.4	Verträglichkeit der Antibiotika	40
4.4.1	Auswirkungen der Cefradin-Applikation	40
4.4.2	Auswirkungen der Lamoxactam-Applikation	45

Seite

5. Diskussion 46

5.1 Die AAP als "frühe Phase-Parameter" zur Feststellung von tubulären Nierenschädigungen 46

5.2 Diskussion der AAP-Ausscheidung unter Cefradin 47

5.3 Diskussion der AAP-Ausscheidung unter Lamoxactam 49

6. Zusammenfassung 50

7. Literaturverzeichnis 51

1. Einleitung und Problemstellung

In den letzten Jahren haben in der Bekämpfung bakterieller Infektionen solche Antibiotika zunehmend an Bedeutung gewonnen, die auch gegenüber Bakterienstämmen wirksam sind, die durch das Spektrum des Penicillins nicht mehr abgedeckt werden.

Eine wichtige Gruppe sind die den Penicillinen verwandten Cephalosporine [1),20),52)].

Wie die Penicilline, aber im verstärkten Maße, werden auch die Cephalosporine vorwiegend über die Niere ausgeschieden. Der intakten Nierenfunktion kommt daher eine große Bedeutung zu. Die Nierenfunktion kann durch Bestimmung des Serumkreatinins, des Serumharnstoffes und der endogenen Kreatinin-Clearence überprüft werden - Parameter, die jedoch erst ab einem gewissen Ausmaß der Schädigung ansprechen. Weitere funktionelle Parameter wie die Proteinurie und die Erythrozyturie reagieren ebenfalls in einer späten Phase der Schädigung der Niere.

Auf der Suche nach einem Parameter, der frühzeitiger toxische Schädigungen, insbesondere am Bürstensaum des proximalen Tubulus anzeigt, gelang es der Arbeitsgruppe MONDORF 1972 nachzuweisen, daß die verstärkte Elimination des Enzyms Alanin-Amino-Peptidase (AAP) in den Harn als sehr empfindlicher Parameter zur Erfassung von tubulären Veränderungen angesehen werden kann:

Zu diesem Zweck wurde von menschlichen Nieren, die zur Transplantation nicht verwendet werden konnten, die Nierenrinde vom Mark abgetrennt; anschließend konnte mittels Differentialzentrifugation und nachfolgender Trennung im Sacharosegradienten eine ca. 20fache Anreicherung der spezifischen Leitenzyme des Bürstensaumes des proximalen Tubulus gegenüber dem Gesamthomogenat der Nierenrinde erreicht werden. Auf diesem Wege konnten folgende Enzyme identi-

fiziert werden:

Alkalische Phosphatase (AP), Alanin-Amino-Peptidase (AAP) und Gamma-Glutamyltranspeptidase (GGTP). Von diesen drei Enzymen ließ sich die AAP als membrangebundenes Enzym mit vorwiegender Alanin-Spezifität und einem Molekulargewicht von 157000 bestimmen. Nach der Behandlung der Bürstensaummembran mit Papain löste sich vor allem die AAP von der Oberfläche ab, die GGTP nur zu einem Drittel, und die AP blieb fest mit der Bürstensaummembran verbunden. Die durch Papain abgelöste AAP hatte jetzt ein Molekulargewicht von 240000. Der Anstieg des Molekulargewichts kann als Zeichen dafür gewertet werden, daß das Enzym in tiefer als glomerulär gelegenen Strukturen lokalisiert ist, es sich somit nicht um eine Serum-AAP handeln kann. Detaillierte Untersuchungen ergaben, daß sich die AAP zu 95% an der Membranoberfläche des Bürstensaumes befindet [28),34),47),48)].

Die Differenzierung zwischen löslicher und membrangebundener AAP ließ sich weiterhin durch Herstellung eines Antikörpers (vom Kaninchen) gegen die Plasmamembran der menschlichen Niere erkennen, wobei sich eine spezifische Fluoreszenz auf der luminalen Seite des proximalen Tubulus zeigte. Im Gegensatz dazu blieben Glomerula und Gefäßendothelien negativ. Der immunologische Nachweis gelang mittels zweidimensionaler Elektroimmundiffusion, nach Papainandauung des Ueberstandes. Die Präzipitate ließen sich mit DL-Alanin-beta-Naphthylamid spezifisch anfärben [31)].

Im Rahmen weiterer Untersuchungen gelang es, die oben genannten drei Enzyme bei folgenden Erkrankungen mit unterschiedlicher Gewichtung im Harn der Patienten nachzuweisen:

Nach akuter postoperativer tubulärer Nekrose (ATN), während der Abstoßungsreaktion nach allogener Nierentransplantation, nach entzündlicher Nierenerkrankung sowie nach Gabe unterschiedlicher Pharmaka (Zy-

tostatika, Antibiotika, Röntgenkontrastmittel [35),36)].

Bei der akuten postoperativen tubulären Nekrose steht die AAP-Ausscheidung im Vordergrund mit Werten von bis zu 415980 mU/24-h-Urin. Der Anstieg von Enzymaktivitäten nach allogener Nierentransplantation konnte noch vor der klinisch faßbaren Abstoßung registriert werden. Alle drei Enzyme ließen sich nachweisen. Nach immunologischer Zuordnung erreichte die GGTP die höchsten Werte bis zu 118965 mU/24-h-Urin.

Bei Untersuchungen von Patienten mit akuter und chronischer Pyelonephritis konnte insbesondere bei der chronischen Pyelonephritis eine vermehrte Ausscheidung membrangebundener AAP nachgewiesen werden, während die GGTP-Ausscheidung bei der akuten Pyelonephritis im Vordergrund stand. Die AAP-Ausscheidung zeigte nur Signifikanz bei der chronischen Pyelonephritis. Ebenfalls erhöhte AAP-Aktivitäten fanden sich bei Glomerulonephritiden. Insulin-abhängige Diabetiker scheiden vermehrt AAP im Urin aus [60)]. Als mögliche Ursache dafür wäre eine osmotische Alteration der Bürstensaummembran anzusehen, die zu einer erhöhten Zellmauserung der Tubuli führt [5),6),7),26),32)].

Unter Diurese und Antidiurese konnten Veränderungen der Enzymurie registriert werden. Die pro ml nachweisbare Enzymausscheidung lag bei der Antidiurese für AAP, AP, GGTP deutlich höher als bei der Diurese. Die Gesamtaktivität pro Zeiteinheit ist jedoch bei letzterer größer [17)].

Zytostatika erzeugen einen Ausstoß von Membranteilen des proximalen Tubulus, die der Enzymurie tubulärer Nekrosen nahekommt (z.B. Cytosin-Arabinosid-Behandlung mit AAP-Werten von 103000 mU/24-h-Urin).

Unter antibiotischer Therapie wurden folgende Ergebnisse von verschiedenen Arbeitsgruppen ermittelt:

Die zunächst tierexperimentellen Untersuchungen an

Ratten und Kaninchen über Veränderungen am proximalen Tubulus nach Cephalosporinapplikation ergaben nach SILVERBLATT et al. [51] und SACK et al. [45] eine ausgeprägte Nephrotoxizität für Cefaloridin - ein Cephalosporin der 1. Generation - geringere für Cefazolin und am wenigsten für Cefalotin. Auch die Prüfung der Nephrotoxizität von LINTON et al. [23] am Tiermodell ergaben ähnliche Befunde für Cefaloridin im Sinne einer tubulären Nekrose, besonders bei Kombination verschiedener Medikamente.

Das von CARLING et al. [10] und PASTERNAK et al. [40] beobachtete akute Nierenversagen beim Menschen unter Cefalotin-Therapie nach längerer Gabe, in hoher Dosierung und in Kombination mit anderen nierengängigen Pharmaka veranlaßte zu weiteren Untersuchungen. MONDORF und Mitarbeiter [33] konnten zeigen, daß sich Cefamandol, Cefazolin und Cefalotin gegenüber dem proximalen Tubulus völlig indifferent verhalten. Cefacetril bewirkte bei 9 von 15 gesunden Versuchspersonen eine deutliche Erhöhung der AAP-Aktivitäten im Harn, wobei bei 6 Personen auch immunologisch die Membranelimination nachweisbar war. Nach Absetzen des Medikaments normalisierten sich die Werte dieser sogenannten Responder-Gruppe (eine Gruppe von Probanden, die eine individuelle Sensibilität auf Pharmaka zeigt).

Ueber das nephrotoxische Potential von Aminoglykosiden wurde in mehreren Studien berichtet [8),37)]. Es lassen sich Toxizitätsunterschiede zwischen einzelnen Aminoglykosiden erfassen. Nach Dibekacin weist Amikacin die höchste Enzymelimination auf, die geringste wurde durch Tobramycin ausgelöst [7)].

Untersuchungen über die tubulo-toxische Wirkung von Cephalosporin-Aminoglykosid-Kombination zeigten, daß die toxische Noxe allein das Aminoglykosid darstellte.

Die Sulfonamid-Kombination Trimethoprim/Sulfamethoxazol bewirkte eine geringe Erhöhung der AAP-Ausscheidung, während Trimethoprim/Sulfoxazol sich fast neutral verhielt.

Neueste Ergebnisse über die Wirkung der hauptsächlich renal ausgeschiedenen Ureido-Penicilline ergaben ein völlig indifferentes Verhalten auf die Tubulusepithelien [7].

Die zunächst durchgeführte tier-experimentelle Prüfung der Cephalosporine Cefradin und Lamoxactam bewirkte auch in relativ hohen Dosen keine Nephrotoxizität [11),16),56].

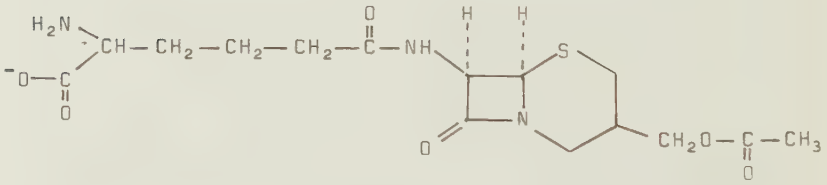
Da diese Ergebnisse nicht ohne weiteres auf menschliche Verhältnisse übertragbar sind, lag eine Ueberprüfung an nierengesunden Probanden nahe.

In unserer Studie untersuchten wir das Cefradin und stellten es in seiner Wirkung auf die menschliche Niere einem neuen Cephalosporin der Oxabetalactam-Reihe, dem Lamoxactam, gegenüber.

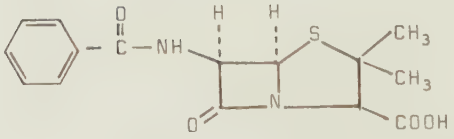
2. Die untersuchten Cephalosporine

2.1 Ueberblick über die Entwicklung der Cephalosporine

Im Jahre 1945 isolierte G. BROTZU [50] einen Antibiotika-produzierenden Pilzstamm, der später als Cephalosporium acremonium identifiziert wurde. Es vergingen acht Jahre bis zur Entdeckung des Cephalosporins C, eines Stoffwechselproduktes dieses Pilzes. Im Jahre 1961 gelang E.P. ABRAHAM und G.G. NEWTON die Strukturaufklärung dieser Verbindung [1].



Cephalosporin C

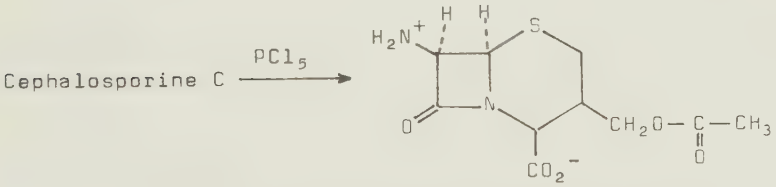


Penicillin G

Das Cephalosporin C-Molekül zeigt eine enge Verwandtschaft zu den Penicillinen. Die Cephalosporine unterscheiden sich von den Penicillinen jedoch, wie G.G. NEWTON und E.P. ABRAHAM nachwiesen, durch eine höhere Stabilität des β-Lactamringes gegen Säure und be-

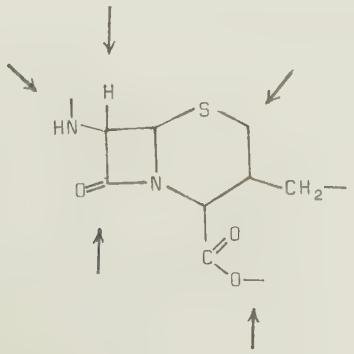
stimmte β-Lactamasen. Das Cephalosporin C selbst hat wegen seiner schwachen pharmakologischen Wirkung jedoch nie therapeutische Bedeutung erlangt. Es war aber Ausgangspunkt für die Suche nach neuen Cephalosporinderivaten mit verbesserter antibakterieller Wirksamkeit.

Die halbsynthetische Herstellung von Cephalosporinderivaten war möglich, nachdem es gelang, das Cephalosporin C in die 7-Aminocephalosporansäure (7-ACS) - das Grundgerüst aller Cephalosporine - zu spalten.

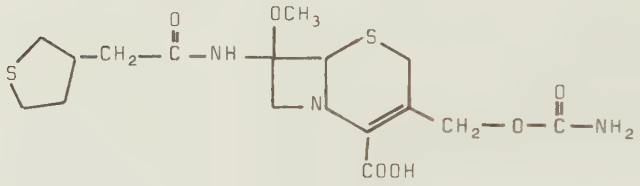


7-Aminocephalosporansäure

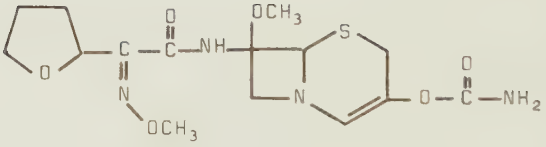
Durch chemische Modifikation am Grundgerüst lassen sich eine Vielzahl abgewandelter Cephalosporine herstellen, wobei die wichtigsten Angriffsstellen für Modifikationen im folgenden durch Pfeile markiert sind:



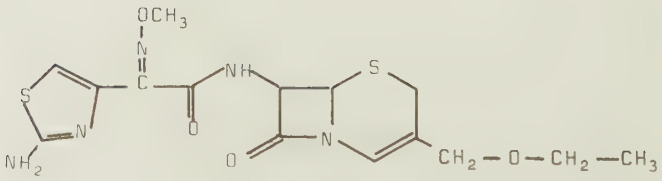
Drei der heute therapeutisch häufig verwendeten Vertreter seien im folgenden aufgeführt [51),53),60),20),54)]:



Cefoxitin

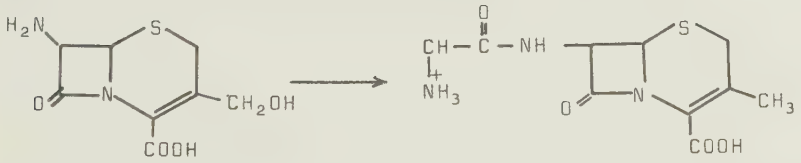


Cefuroxim



Cefotaxim

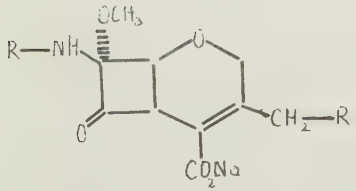
Ausgangssubstanz für das u.a. in der vorliegenden Arbeit untersuchte Cephalosporin - Cefradin - ist die 7-Aminodesacetoxycephalosporansäure (7-ADCS), die durch hydrierende Abspaltung der Acetoxygruppe aus der 7-ACS hergestellt wird.



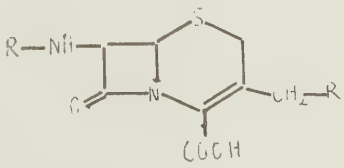
7-ADCS

Cefradin

Das ebenfalls in dieser Arbeit untersuchte Lamoxactam (1-Oxacephalosporin) ist ein Vertreter der in jüngster Zeit entwickelten Cephalosporin-Derivate. Es ist dadurch gekennzeichnet, daß der Schwefel im Sechsring durch ein Sauerstoffatom ersetzt ist. Seine Herstellung gelingt durch Teilsynthese aus Penicillin.



Lamoxactam

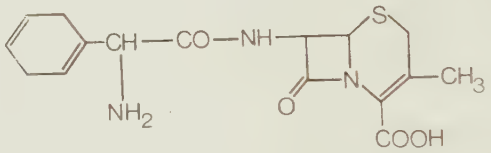


Cephalosporine

2.2 Cefradin

Chemische Daten

Das gewählte Präparat ist ein halbsynthetisches Antibiotikum aus der Gruppe der Oralcephalosporine und hat die chemische Bezeichnung D-7-[2-Amino-2(cyclohexa-1,4-dien-1-yl)-acetamido]3-methyl-8-oxo-5-thia-1-aza-bicyclo-[4,2,o]-oct-2-en-2-carbonsäure,Monohydrat.



Der Gesamtnatriumgehalt von Cefradin beträgt etwa 165 mg pro 1 g Cefradin. Die Substanz liegt in Kapseln und als Pulver vor; letzteres ist löslich in Aqua dest., isotoner NaCl-Lösung oder 5%iger Dextrose. Injiziert wird ein Gemisch aus Cefradin und Natriumkarbonat [56].

Mikrobiologisches Wirkungsspektrum

Als Breitspektrum-Antibiotikum mit bakterizider Wirkung ist die in vitro Aktivität von Cefradin gut gegen Staphylo- und Streptokokken. Bei Staphylokokken erstreckt sich die Wirksamkeit sowohl auf Penicillin-empfindliche als auch auf Penicillin-resistente Erreger, bei Streptokokken sowohl auf Streptococcus pyogenes als auch auf Streptokokken der Gruppe D und Diplococcus pneumoniae. Weiterhin besteht Wirksamkeit gegen die folgenden gramnegativen Erreger:Escherichia coli, Klebsiella-Arten, Proteus mirabilis, Shigellen- und Salmonellen-Arten, Neisseria meningitidis. Schwächere Wirksamkeit wurde beobachtet gegen-

über Hämophilus influenzae und Bordetella-Arten. Gegenüber β-Lactamasen besteht eine gering gesteigerte Festigkeit, bedingt durch die α-Aminogruppe des Substituenten am Lactamring, die eine gewisse Schutzfunktion übernimmt [53].
Resistent sind: Enterokokken, Enterobacter, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, einige Stämme von E. coli, Klebsiellen und Proteus.

Pharmakokinetik

Cefradin erreicht bei nierengesunden Patienten nach Verabreichung von 2 g i.v. oder 0,5 g oral eine Halbwertzeit (HWZ) von 40-42 min. Entsprechend verlängert sich die HWZ bei niereninsuffizienten Patienten mit sinkender Inulinclearence und steigendem Plasmakreatinin. Nach einer Gabe von 2 g i.v. werden Serumspiegel von 26,82 mcg/ml und Gewebespiegel von 12,92 mcg/ml erreicht. Nach oraler Gabe erfolgt eine weitgehend vollständige Resorption mit einem Blutspiegelmaximum nach 1 Stunde. Bei 1 g Cefradin oral beträgt der Serumspiegel 23 mcg/ml. Die niedrige Eiweißbindung von 6-15% bedeutet einen hohen aktiven und damit diffusionsfähigen Anteil [14), 47),62)].

Das Verteilungsvolumen beträgt 24,3 l (Cefalotin 18 l und Cefazolin 15 l). Es findet praktisch keine Metabolisierung statt. Die Ausscheidung erfolgt bis zu 98% in aktiver Form durch die Niere. Liquorgängigkeit wird nicht beobachtet [55),57),58),59)].

Anwendungsbereich

Infektionen der Atmungsorgane, des Magendarmtraktes und der Harn- und Geschlechtsorgane sowie der Haut und des Bindegewebes, die durch empfindliche Erreger hervorgerufen werden. Weitere Anwendungsmöglichkeiten: Otitis media, Sinusitis, Tonsillitis, Pharyngitis, Scharlach und Phlegmonen [12),4)].

Die Normdosis beträgt 2-4 g. Sie kann gesteigert werden bis zu einer Tagesdosis von 8 g; diese sollte jedoch nicht überschritten werden.

Verträglichkeit

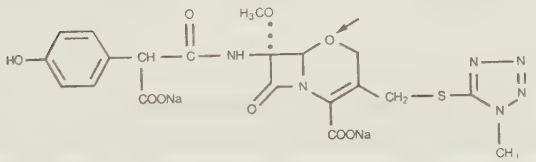
Untersuchungen auf Nephrotoxizität bei Mäusen mit Dosen von 500-1000 mg/kg über 3 Tage, bei Affen mit 80 mg, 160 mg, 600 mg über 14 Tage zeigten bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung des Nierengewebes keine Veränderungen im Sinne einer Nephrotoxizität [42),25),2)].

Zu den Nebenwirkungen werden allergische Reaktionen, Störungen des Magendarmtraktes (Uebelkeit, Erbrechen, Glossitis, Diarrhoen), des Blutes (leichte Eosinophilie, Leukopenie) und einer Thrombophlebitis an der Injektionsstelle angegeben [24)].

2.3 Lamoxactam

Chemische Daten

Lamoxactam ist ein halbsynthetisches Antibiotikum aus der neuen Klasse der Oxa-Betalactam-Reihe mit der chemischen Bezeichnung Dinatrium-(6R,7R)-7-[2-Carboxylato-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-7-methoxy-3-(1-methyl-5-tetrazolyl-thiomethyl)-8-oxo-5-oxa-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat.



Im Vergleich zu anderen β-Lactamantibiotika finden sich folgende Strukturunterschiede:

An die Stelle des Schwefelatoms im Grundgerüst der 7-Aminocephalosporinsäure tritt ein Sauerstoffatom, außerdem ist das Ringgerüst in 7α-Stellung substituiert. Lamoxactam existiert in den zwei epimeren Formen R und S. Das Epimer R ist das aktivere [15].

Der Natriumanteil beträgt bei 1 g Lamoxactam 80 mg. Die Substanz ist in Wasser, phys. Kochsalzlösung und in 5%iger Glucose löslich; sie ist unlöslich in den meisten organischen Lösungsmitteln.

Mikrobiologisches Wirkungsspektrum

Das Präparat zeichnet sich durch eine hohe Aktivität gegenüber gramnegativen und anaeroben Keimen aus. Lamoxactam zeigt ein gutes Penetrationsvermögen durch die äußere Membran der Bakterienzellwand und hemmt die Biosynthese der Zellwand proliferie-

render Bakterien, indem es ein Enzym der Zellwand, die Transpeptidase inaktiviert. Dies ist besonders von Vorteil bei multiresistenten Problemkeimen (Enterobacter cloacae, Serratia marcescens, indolpositive Proteus, Bacteroides fragilis) [38].

Lamoxactam ist weiterhin wirksam gegen E. coli, Citrobacter, Hämophilus influenzae, Klebsiellen, Fusobakterien und Pseudomonas aeruginosa.

Die Stabilität gegenüber β-Lactamasen ist hoch, beispielsweise gegenüber Enterobakterien, einschließlich E. cloacae, E. aerogenes, indolpositive Proteus, S. marcescens, P. aeruginosa und Bacteroides fragilis.

Aktivitäten zeigen nur zwei β-Lactamasen und zwar PBP 2 und PBP 3 (Penicillin-bindende Proteine) mit einer Hydrolysierungsrate von 7% und 20% [15]. Resistent sind einige Pseudomonas- und Staphylococcus aureus-Stämme.

Pharmakokinetik

Die Serumhalbwertzeit nach Gabe von 1 g Lamoxactam i.v. beträgt 114 min, bei 2 g 165 min, bei Verabreichung der gleichen Menge (1 g) i.m. 138 min.

Die Serumkonzentration liegt nach Kurzinfusion von 2 g über 20 min bei 150 mcg/ml.

Die Plasmaeiweißbindung liegt bei 38%. Eine Metabolisierung im Körper findet nicht statt. Die Ausscheidung erfolgt in aktiver Form über die Nieren. Nach 24 Std. ist eine durchschnittliche Urinausscheidung von 55-65% zu messen. Bei niereninsuffizienten Patienten verlängert sich die Ausscheidung entsprechend.

Lamoxactam ist liquorgängig. Nach Gabe von 2 g/8-stdl. wurden nach ca. 2,5 Std. Konzentrationen von 25 mcg/ml gemessen [15),16),11].

Anwendungsbereich

Infektionen der unteren Atemwege, der Nieren und Harnwege, gramnegativer Meningitis, Peritonitis, Erkrankungen der Gallenwege, Septikämie, Infektionen in der Gynäkologie und Infektionen der Knochen und Gelenke. Ausreichend ist eine Dosis von 250 bis 500 mg/12-stdl. bei leichten Infektionen, 500 mg bis 1 g/8 bis 12-stdl. bei mittelschweren und 1 bis 2 g/8-stdl. bei schwerer Infektion [38].

Verträglichkeit

Toxikologische Studien an Ratten, Mäusen, Hunden und Rhesusaffen ergaben keine Nephrotoxizität bei Ratten, wenn die Dosis von 800 mg/kg nicht überschritten wurde. Bei Rhesusaffen beobachtete man be einer Dosis von 1000 mg/kg Diarrhoe, bei einer Dosis von 5000 mg/kg Erbrechen [15].

Als mögliche Nebenwirkungen werden allergische Hautreaktionen, Eosinophilie, Hypothrombopenie (in seltenen Fällen eine plasmatische Gerinnungsstörung), gastrointestinale Beschwerden (Diarrhöen) und vorübergehende Erhöhung der Leberenzyme angegeben.

Es sind Wechselwirkungen zwischen Lamoxactam-Gabe und Alkoholgenuß beobachtet worden, und zwar treten antabusähnliche Erscheinungen auf wie Uebelkeit, Erbrechen, Hypotonie und periphere Gefäßerweiterung.

3. Versuchsteilnehmer und Versuchsablauf

3.1 Versuchsteilnehmer

Die Cefradin-Studie wurde an einem einheitlich weiblichen Probandenkollektiv durchgeführt. Es nahmen 13 Frauen im Alter von 20 bis 47 Jahren auf freiwilliger Basis teil. Teilnahmebedingungen waren nierengesunde Probanden. Dies wurde anhand des Serumkreatinins (Wert unter 1,2 mg%), Serumharnstoffs (Wert bis zu 50 mg%) und einer endogenen Kreatinin-Clearence von mindestens 50 ml überprüft.

An der Untersuchung zur Lamoxactam-Studie nahmen freiwillig 10 nierengesunde Männer im Alter zwischen 23 und 30 Jahren teil. Voraus gingen die gleichen Vorbereitungsuntersuchungen wie bei den weiblichen Probanden.

Während der Versuchsperioden und zwei Tage zuvor wurde bei beiden Studien um Alkoholkarenz gebeten, andere Getränke waren erlaubt. Des weiteren sollten keine zusätzlichen Medikamente genommen werden.

3.2 Versuchsablauf und allgemeine Voruntersuchungen

Die Probanden der Cefradin-Studie sammelten über einen Zeitraum von 9 Tagen 24-h-Urin: 2 Tage vor Beginn der Antibiotikagabe, an den drei Applikationstagen und vier Tage danach. Appliziert wurden 2 X 3 g Cefradin (gelöst in 50 ml Aqua dest.) an drei aufeinander folgenden Tagen mittels Kurzinfusion über 45 Minuten.

Die 10 Probanden der Lamoxactam-Studie hatten eine Sammelperiode von 8 Tagen, aufgeteilt in eine Vorperiode von 2 Tagen, 3 aufeinander folgende Applikationstage und eine 3-tägige Nachperiode. Appliziert wurden 2 X 2 g Lamoxactam, gelöst in 50 ml Aqua dest., per infusionem über 30 Minuten.

Die Abstände zwischen den Injektionen betrugen bei beiden Studien 5-7 Stunden.

Zum Sammeln des Urins wurden den Probanden Polyäthylengefäße mitgegeben, die zur Hemmung bakteriellen Wachstums mit einer Spatelspitze Natriumacid (Fa. Merck, Art. 6688) versetzt wurden. Schon während der Sammelperiode sollte der Urin bei + 4°C kühl gelagert werden. Die Verarbeitung erfolgte entweder sofort nach Abgabe, spätestens nach 24 h. Vor der Weiterverarbeitung wurde die tägliche Gesamturinmenge durchmischt und ihr Volumen gemessen. Zur Durchführung der Voruntersuchungen wurde der Sammelurin täglich auf folgende Parameter hin überprüft: Eiweiß, Blut, Nitrit, Urobilinogen, Bilirubin, Glucose, Ketonkörper, ph-Wert, und zwar mittels Teststreifen N-Multistix ^{R} (Firma Miles, Sparte Ames, Frankfurt).
Außerdem wurde aus Blut und Urin die endogene Kreatinin-Clearence ermittelt, und zwar am Tag vor Gabe des Antibiotikums, am 1. Tag nach Gabe und am 8. bzw. 9. Tag mit Abschluß der Versuchsreihen.

Ueberprüft wurden weiterhin durch Blut-Vielfachanalyse: Leberfunktion, Harnfixa, Mineralien, Eiweiß, Glucose. Außerdem wurde das Blutbild überprüft (Zentrallabor des Zentrums der Inneren Medizin und Chirurgie der Universitätsklinik, Frankfurt).
Zu Beginn jeder Versuchsreihe wurde der Blutdruck jedes Probanden gemessen.

Zur Bestimmung der Alanin-Amino-Peptidase (AAP) wurde von der täglichen Gesamturinmenge eine Probe von 40 ml abfiltriert. Zum Zwecke des immunologischen Nachweises der AAP dienten Proben von 2 X 5 ml des Nativharns. Diese wurden täglich der Gesamturinmenge entnommen, in eine Filtrationskammer (Firma Amicon, Typ Minicon ^{TM}B) gegeben und auf das 25fache des Volumens einkonzentriert. Das Endvolumen von 1-2 ml wurde abpipettiert, in Eppendorfgefäße gefüllt und bis zur Weiterverwendung bei + 4°C aufbe-

wahrt. Der immunologische Nachweis wurde pro Versuchsstudie fortlaufend jeweils bei zwei Probanden durchgeführt.

Das Schema des gesamten Versuchsablaufs im Hinblick auf die zwei geprüften Antibiotika ist in den Tabellen auf Seite 19 und Seite 20 zusammengefaßt.

3.3 Analysemethoden

3.3.1 AAP-Bestimmung durch enzymatische Messungen

Die kinetische Aktivitätsbestimmung der AAP wurde aus frisch filtriertem Nativharn vorgenommen. Die Messung erfolgte im Eppendorf-Photometer bei 25°C und 405 nm.

AAP-Testansatz

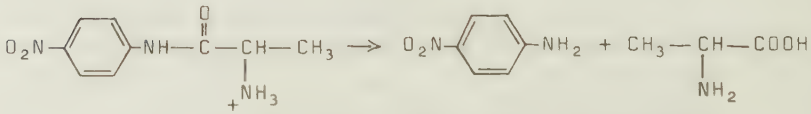
0,2 ml $1.66 \cdot 10^{-2}$ M L-Alanin-4-Nitroanilid-hydrochlorid-Lösung als Substrat,

1,4 ml Phosphatpuffer pH 7,6 (0,1 M Na_2HPO_4 und 0,1 M $KHPO_4$),

0,4 ml Nativharn.

Das Endvolumen in der Küvette betrug somit 2 ml.

Folgender Reaktionsvorgang findet statt:



L-Alanin-4-Nitroanilid-Hydrochlorid $\xrightarrow{AAP}$ p-Nitroanilin + L-Alanin

Schema des Versuchsablaufs
- Cefradin -

	Vorperiode		Applikationstage			Nachperiode			
Tag	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7
Urin 24-h Sammlung	x	x	x	x	x	x	x	x	x
AAP-Bestimmung	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Multistix®	x	x	x	x	x	x	x	x	x
endogene Kreatinin-Clearence		x	x						x
Blut-Vielfachanalyse			x						x
Blutbild			x						x
2X3 g i.v. Cefradin			x	x	x				
Blutdruck-Messung	x								

Schema des Versuchsablaufs
- Lamoxactam -

	Vorperiode		Applikationstage			Nachperiode			
Tag	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7
Urin 24-h Sammlung	x	x	x	x	x	x	x	x	x
AAP-Bestimmung	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Multistix®	x	x	x	x	x	x	x	x	x
endogene Kreatinin-Clearence		x		x					x
Blut-Vielfachanalyse			x						x
Blutbild			x						x
2X2 g i.v. Lamoxactam			x	x	x				
Blutdruck-Messung	x								

Nach Einpipettieren des Ansatzes in die Küvette und sofortigem Durchmischen wurden das entstehende Nitroanilin als Extinktionszunahme/Zeit (sec) mittels Stoppuhr im Photometer gemessen. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt, bei mehr als 10%-iger Abweichung Vierfachbestimmungen.

Berechnung der Aktivität nach der Formel:

$$mU/ml = \frac{2 \times 10{,}4 \times 60}{t_{sec} \times \text{Probenvolumen}_{ml}}$$

2 = Endvolumen des Testansatzes in ml
10,4 = molarer Extinktionskoeffizient von Nitroanilin
t_{sec} = Zeit in Sekunden für Extinktionszunahme Δ E = 0,100.
Anschließend wurde die Aktivität auf die Menge der 24-h-Urinausscheidung umgerechnet.

3.3.2 Immunologische Methoden zum Nachweis der AAP

Zum immunologischen Nachweis der Alanin-Amino-Peptidase (AAP) im Urin wurde die Immunoelektrophorese nach Laurell eingesetzt. Das Prinzip dieser quantitativen Darstellung beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion in einer Gelsubstanz während der Elektrophorese [21),22)]. Es wird ein definiertes Volumen eines Antigens in ein Agarosegel gegeben, welches den korrespondierenden Antikörper enthält. Im elektrischen Feld wandern Antigen und Antikörper. Die Reaktion wird sichtbar in Form von Präzipitationsbanden (linear).

Um den Antikörper herzustellen, bedarf es folgender Vorbereitungen:

Aus menschlichen Nieren wird eine Plasmamembranfraktion vom proximalen Tubulus gewonnen. Diese Fraktion erzeugt bei Tieren - in unserem Falle Ziegen - ein Hyperimmunserum.

Gegen diesen Anti-Plasmamembranantikörper zeigt die Alanin-Amino-Peptidase (Antigen) in der eindimensionalen Elektrodiffusion Präzipitate.

Zur Durchführung dieser Methode wurde zunächst ein Trägergel auf folgendem Wege hergestellt: Spezial-Agarose 1,6%ig (LKB Agarose-H, Nr. 2206-102, LKB Instrument GmbH, Ffm/Main) wurde in 1:4 verdünntem 0,06 M Natrium-Veronal-Puffer pH 8,6 gelöst. Anschließend wurde diese Lösung zum Sieden gebracht, dann im Wasserbad auf 50°C rücktemperiert. Als Antikörper wurde das Anti-AAP-Serum der Ziegen Paula und Bruni α-PM (Plasmamembranfraktion) (hergestellt am 27.2.1978), absorbiert gegen Plasmaprotein, hinzugegeben. Die Zusammenstellung erfolgte so, daß ein 0,8%iges Gel mit 1%igem Antikörperzusatz entstand. Beides wurde auf eine Glasplatte (7x10 cm) gegossen. Nach dem Erkalten wurden 20 Löcher am unteren Rand der Platte ausgestanzt (Durchmesser je 4 mm).

Von der Cefradin-Versuchsreihe wurden neun Löcher mit je 10 µl AAP-Urinkonzentrat, von der Lamoxactam-Versuchsreihe acht Löcher mit je 10 µl AAP-Urinkonzentrat eingetragen. In zwei weitere Löcher wurde eine Standard-AAP-Lösung (Pfleiderer) 1,5%ig, 1:20 und 1:50 verdünnt einpipettiert. Anschließend wurde die Platte in eine Immunoelektrophoresekammer mit Durchflußkühlung und Gleichstromgenerator gelegt (Firma Medical and Biological Instrumentation Ltd., Asford/Kent Engl.).

Als Elektrodenpuffer diente der Natrium-Barbital-Puffer (Veronal) pH 8,6 nach Laurell. Ein Filterpapierstreifen in entsprechender Größe bildete den Kontakt zum Gel. Die Laufzeit der Elektrophorese betrug 16 h bei Raumtemperatur und 120 V Ausgangsspannung, ausschließlich in anodischer Richtung.
Danach wurde die Platte in 9%iger Kochsalzlösung gewässert, dann getrocknet und abschließend spezifisch gefärbt.

Spezifische AAP-Färbung

Zur Darstellung der AAP wurde pro Gelplatte folgender Färbeansatz hergestellt:

20 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,6 (0,1 M Na_2HPO_4 und 0.1 M KH_2PO_4) mit 2 ml 0,02 M KCN (als Katalysator). 10 Minuten bei 37°C vorinkubiert.

24 mg DL-α-Alanin-β-Naphthylamid (Firma Serva, Heidelberg Nr. 11532) in 2 ml Methanol und
30 mg Fast-Blue-B-Salt in 2 ml Aqua dest. (Firma Serva, Heidelberg Nr. 2170) gelöst. Beide Lösungen wurden gleichzeitig in den vorinkubierten Puffer gegeben.

Mit dieser Färbelösung wurde die Gelplatte übergossen und anschließend 30 Minuten bei 37°C im Brutschrank inkubiert.
Immunpräzipitate mit AAP-Aktivität stellen sich als rote Banden dar.

Statistische Methoden

Als einfache Kenngrößen des Meßwertkollektivs wurden das arithmetische Mittel, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient herangezogen. Für die Austestung der Ergebnisse auf signifikante Unterschiede wurde der Wilcoxon-Test für verbundene bzw. unverbundene Paardifferenzen benutzt. Als Signifikanzniveau wurde die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit $P = 2\alpha = 0,05$ vorgegeben [63].

4. Ergebnisse

4.1 Normalausscheidung der Alanin-Amino-Peptidase

Die bisher vorliegenden Aktivitätsbestimmungen der Alanin-Amino-Peptidase im 24-h-Urin von Normalpersonen lassen die folgenden Schlüsse zu:

Die AAP-Aktivitäten im 24-h-Urin stellen statistisch eine Gaußverteilung dar.

Der Bereich von 1000 bis 3500 mU/24h kann als normal angesehen werden.

Die AAP-Ausscheidung schwankt von Individuum zu Individuum in nur engen Grenzen. Die tägliche Ausscheidung zeigt eine hohe individuelle Konstanz.

Eine unterschiedliche Enzymausscheidung zwischen Frauen und Männern (Männer 2300 $\pm$ 900 mU/24h, Frauen 1400 $\pm$ 500 mU/24h) beruht auf der Korrelation zwischen den Nierengewichten. Im Durchschnitt zeigen männliche Personen um 450 mU/24h höhere Aktivitäten als weibliche [28].

Weiterhin besteht eine Abhängigkeit der AAP-Ausscheidung vom Diuresezustand, d.h., in der Diurese steigen die Aktivitäten an, während sie in der Antidiurese absinken. Der physiologische Bereich wird dabei aber nicht verlassen.

Der immunologische Nachweis der AAP gelingt mit der hier angewandten Methode nur bei pathologischen Konzentrationsbereichen.

4.2 Cefradin-Studie

4.2.1 Verhalten der Alanin-Amino-Peptidase unter Cefradin

Die während der Cefradin-Studie gemessenen AAP-Aktivitäten sind im einzelnen in Tabelle 1 auf Seite 26 zusammengestellt. Die obere Kurve in Abbildung 1 auf Seite 27 zeigt die entsprechenden Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Alle 10 weiblichen Probanden hatten in den Tagen -2/-1 (Leerwerte) AAP-Ausscheidungen, die im Normbereich lagen. Die Mittelwerte der AAP waren mit 2112 und 2154 mU/24h nahezu identisch. Nach dreimaliger Cefradingabe lagen die Mittelwerte am 1. Tag bei 1676 mU, am 2. Tag bei 2128 mU/24h und am 3. Tag bei 1928 mU/24h alle unverändert im Normbereich.

Der höchste AAP-Mittelwert wurde am Tag fünf gemessen mit 2173 mU/24h, der niedrigste am Tag sieben mit 1647 mU/24h, somit eine Differenz von 526 mU/24h. Es kam zu keinem signifikanten Enzymanstieg.

Eine der Probandinnen (G.,A. 36 J.) zeigte am 2. Tag der Applikation einen einmaligen Anstieg auf 4109 mU/24h, um am 3. Tag der Antibiotika-Gabe dann wieder im Normbereich zu liegen (vgl. Abb. 2, Seite 28).

Die enzymatischen Meßergebnisse wurden durch die immunologischen Nachweisreaktionen bestätigt. Die AAP-Aktivität im Harnkonzentrat der Cefradin-Probanden ließ sich aufgrund der niedrigen Werte färberisch nicht darstellen.

Applikation von Cefradin 2 x 3 g

Tag mU/24h

Name	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7
S.,A. ♀ 23 J.	2587	2295	2213	2211	2134	2028	1436	1513	2082
S.,R. ♂ 33 J.	2415	2211	1950	2294	1874	2021	1793	2004	1609
G.,A. ♂ 36 J.	1994	2007	1682	4109	2257	2277	2969	1712	1872
W.,D. ♂ 33 J.	1437	1731	1616	2076	2851	1468	1746	2312	1643
H.,M. ♂ 20 J.	2668	2188	2099	1872	2331	1689	2115	1758	1943
S.,B. ♂ 25 J.	1510	1890	1428	1649	1993	2247	2131	1830	1559
F.,E. ♂ 47 J.	2530	2184	1330	2205	1992	2268	2619	2362	2185
K.,M. ♂ 22 J.	1685	1856	1768	2350	2324	1377	3161	2348	547
R.,A. ♂ 23 J.	2703	3563	1216	1205	1448	1448	2024	2074	1410
W.,C. ♂ 28 J.	1593	1623	1265	1270	2150	1903	1342	2195	1580

AAP	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7
$\bar{x}$	2112	2154	1676	2128	1936	1874	2173	2039	1647
s	520	557	358	810	366	360	551	312	446
VK	24,6	25,9	21,4	38,1	19,0	19,2	25,4	15,3	27,1
$\sum$	21122	21548	16767	21282	19281	18744	21735	20393	16472

Tabelle 1: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin vor, während und nach dreimaliger Cefradin-Applikation

$\sum$ = Summe der AAP-Werte

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24 h

s = Standardabweichung

VK = Variationskoeffizient

Alanin-Amino-Peptidase
(AAP) im 24-h-Urin

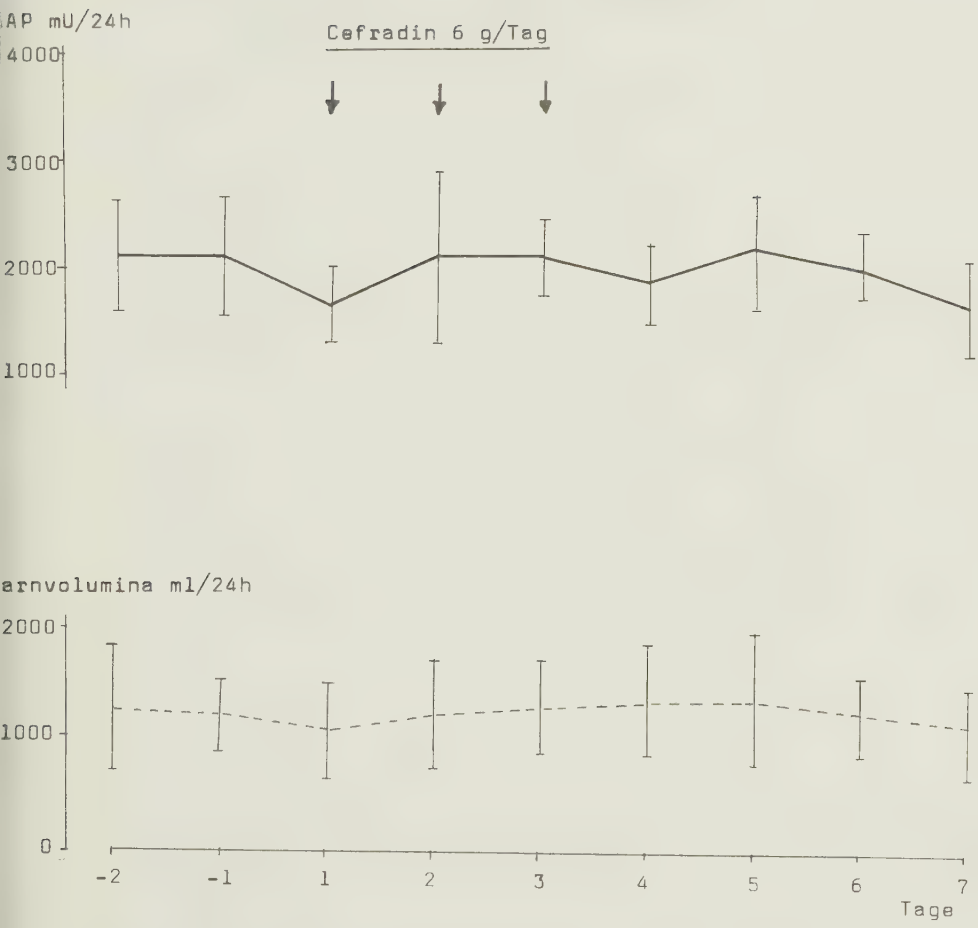


Abb. 1: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin und 24-h-Harnvolumina der Vorperiode, der Applikationstage und der Nachperiode

- Mittelwerte der 10 Probandinnen
- Standardabweichung

Alanin-Amino-Peptidase (AAP) im 24-h-Urin

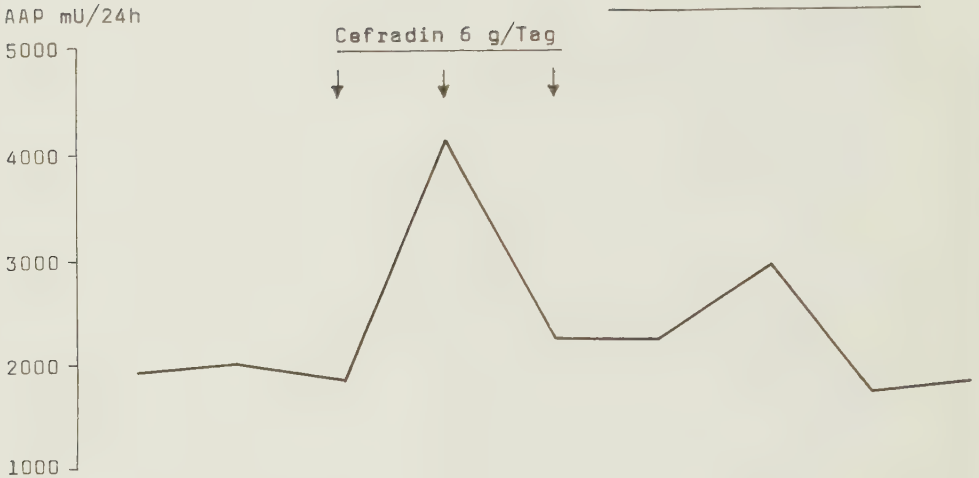
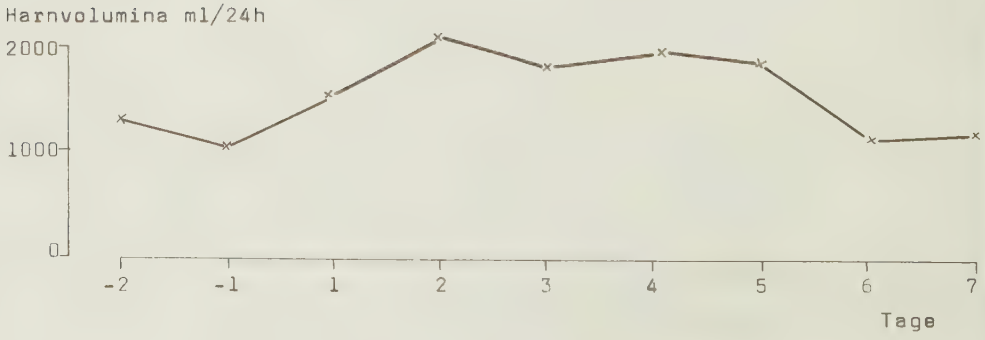


Abb. 2: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin und 24-h-Harnvolumen der Probandin G.,A.



4.2.2 Harnvolumina und endogene Kreatinin-Clearence unter Cefradin

Die nachfolgenden Tabellen 2 und 3 geben eine Uebersicht über die Einzelwerte der Harnvolumina und der endogenen Kreatinin-Clearence im Verlauf der 9-tägigen Studie. Die entsprechenden Mittelwerte und ihre Standardabweichungen zeigt die untere Kurve in Abbildung 1 auf Seite 27.

Wie zu ersehen ist, zeigen die durchschnittlichen Harnvolumina unter Cefradin-Gabe keine negative Tendenz. Das niedrigste durchschnittliche Volumen betrug am 1. Tag der Applikation 1084 ml/24h, den höchsten Wert erreichte der Tag fünf mit 1397 ml/24h. Probandin W.,C. (22 J.) hatte die niedrigsten Einzelwerte am 1. und 2. Tag der Applikation mit 460 und 440 ml/24h. Am folgenden Tag erreichte sie wieder das Ausgangsvolumen und blieb dann im weiteren Verlauf unauffällig.

Die endogene Kreatinin-Clearence wies Schwankungen im Bereich der Norm auf, ohne jedoch nach der Cefradin-Gabe eine eindeutige Tendenz zu haben.

Drei Probandinnen zeigten unter der Cefradin-Gabe schwerwiegende Nebenwirkungen, die zum Versuchsabbruch führten, und auf die in Punkt 4.4 genauer eingegangen wird.

	Tag	ml/24 h							
Name	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7
S.,A. w 23 J.	2100	900	1660	1820	1940	1540	1320	1100	1450
S.,R. w 33 J.	920	760	720	780	710	850	620	1080	660
R.,A. w 23 J.	500	980	820	890	910	800	620	660	870
G.,A. w 36 J.	1300	1050	1540	2100	1790	1940	1850	1100	1200
W.,D. w 33 J.	840	1330	1400	1730	1760	1310	800	1540	1400
F.,E. w 47 J.	2170	1930	780	1440	1380	2100	2360	2210	1500
W.,C. w 22 J.	1080	1200	460	440	1070	850	1130	1420	1040
H.,B. w 20 J.	1840	1600	1600	1290	1690	1960	1800	1240	1570
S.,B. w 25 J.	1120	1260	1130	1020	1060	1490	1360	1330	840
K.,H. w 22 J.	980	1290	760	960	980	980	2120	1320	720

Harn-vol.	-2	-1	1		3				
$\bar{x}$	1277	123	1084	1240	1320	1341	1347	1	1125
	5	3	43	3		211	43	331	
VK	44,	24,6	40,	42,	33,	3 ,	44,5	34,3	29,
$\sum$	12770	12300	1084	12460	13	13610	13470	12	11250

Tabelle 2: Harnvolumina vor, während und nach dreimaliger Cefradin-Applikation

$\sum$ = Summe der Harnvolumina S = Standardabweichung

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24h VK = Variationskoeffizient

Cefradin - Studie Endogene Kreatinin-Clearence

Name	ml/min Tag: -1	1	7
S.,A. w 23 J. 169 cm 61 kg	122	82	109
S.,R. w 33 J. 169 cm 63 kg	97	91	96
G.,A. w 36 J. 162 cm 60 kg	97	93	[illegible]
J.,D. w 33 J. 162 cm 55 kg	[illegible]	111	[illegible]
H.,M. w 20 J. 163 cm 66 kg	75	[illegible]	[illegible]
S.,B. w 25 J. 174 cm 54 kg	101	[illegible]	[illegible]
F.,E. w 47 J. 162 cm 56 kg	[illegible]	[illegible]	[illegible]
J.,C. w 22 J. 175 cm 69 kg	[illegible]	111	[illegible]
K.,M. w 22 J. 173 cm 58 kg	50	72	[illegible]
R.,A. w 23 J. 163 cm 56 kg	53	59	55

Tabelle 3: Ergebnisse der endogenen Kreatinin-Clearence Werte des 2. Leerwerttages, des 1. Applikationstages und des 4. Tages nach Applikation

4.3 Lamoxactam-Studie

4.3.1 Verhalten der Alanin-Amino-Peptidase unter Lamoxactam

Die während der Lamoxactam-Studie gemessenen AAP-Aktivitäten sind im einzelnen in Tabelle 4 auf Seite 33 zusammengestellt. Einen Ueberblick über die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen gibt die graphische Darstellung in Abbildung 4, Seite 34 (obere Kurve). Die Meßergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Für die Leerwerttage -2/-1 der Versuchsreihe zeigten alle 10 männlichen Probanden Normwerte. Der Mittelwert lag am Tag -2 bei 2779 mU/24h und am Tag -1 bei 2557 mU/24h. Die Differenz betrug nur 222 mU/24h.

Die AAP-Aktivitäten stiegen zwar unter Lamoxactam-Gabe an, die Mittelwerte lagen jedoch im Normbereich. Der maximale Mittelwert von 3154 mU/24h konnte am Tag vier gemessen werden. Lediglich zwei Probanden hatten merklich erhöhte Werte. Proband K.,W. (23 J.) hatte einen Enzymanstieg ab dem 1. Applikationstag, beginnend mit 3740 mU/24h bis zu einem maximalen Einzelwert von 5112 mU/24h (siehe Abbildung 5 auf Seite 35). Proband T.,U. (28 J.) zeigte am Tag vier einen Einzelwert von 4387 mU/24h (siehe die folgende Tabelle 4). Zum Ende der Versuchsreihe lagen die AAP-Werte wieder annähernd im Bereich der Norm. Es ließ sich keine signifikant höhere AAP-Aktivität nachweisen.

Applikation von Lamoxactam 2x2 g

Tag mU/24 h

Name	-2	-1	1	2	3	4	5	6
S.,H. m 30 J.	2814	2868	2595	2767	2713	2088	1753	3496
O.,H. m 26 J.	2648	3036	2620	3684	3862	3234	2411	2078
D.,J. m 29 J.	3001	3539	2869	1830	2626	1995	1548	1913
P.,P. m 27 J.	2426	2138	3438	2356	2988	3368	3446	2225
D.,J. m 28 J.	3070	2449	2260	1845	1969	2571	3197	2299
T.,U. m 28 J.	3165	1622	3078	2485	2932	4387	2586	3691
S.,W. m 27 J.	2574	2660	3077	2058	3622	3123	3170	2671
Z.,G. m 27 J.	2971	2914	2412	2882	3256	2503	2223	3386
B.,F. m 23 J.	2536	1328	2407	1381	2451	3166	2197	1755
K.,W. m 23 J.	2554	3018	3740	3974	3929	3112	4354	3708

AAP	-2	-1	1	2	3	4		
$\bar{x}$	2779	2557	2849	2526	3039	3154	2693	3174
S	258	682	389	689	596	741	861	740
VK	9,3	26,7	13,7	27,3	19,3	23,5	32,0	26,1
Σ	27793	25572	28496	25262	30350	31547	26896	28547

Tabelle 4: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin vor, während und nach dreimaliger Lamoxactam-Applikation

Σ = Summe der AAP-Werte S = Standardabweichung

$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24h VK = Variationskoeffizient

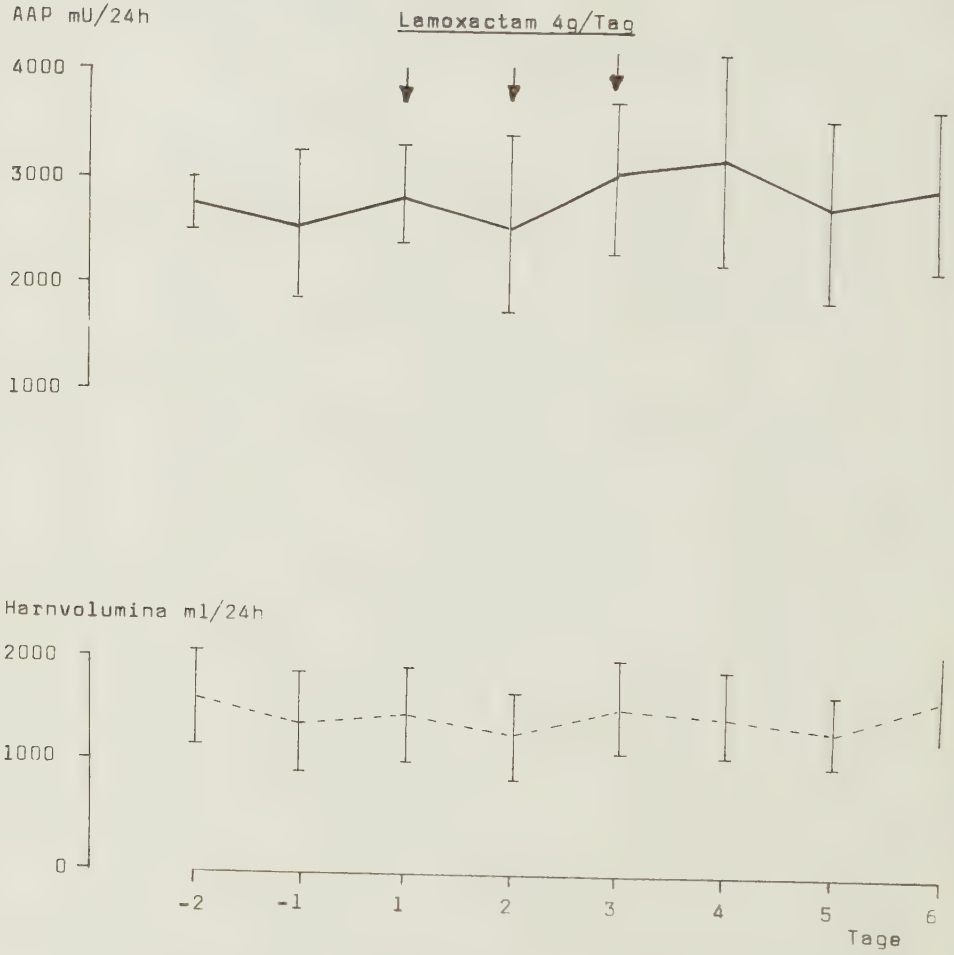


Abb. 4: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin und 24-h-Harnvolumina der Vorperiode, der Applikationstage und der Nachperiode

- Mittelwerte der 10 Probanden
- Standardabweichung

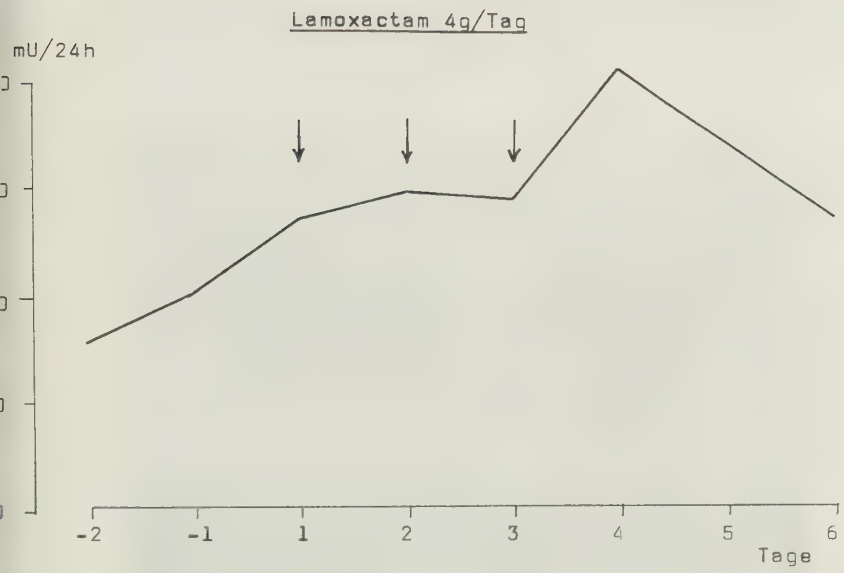
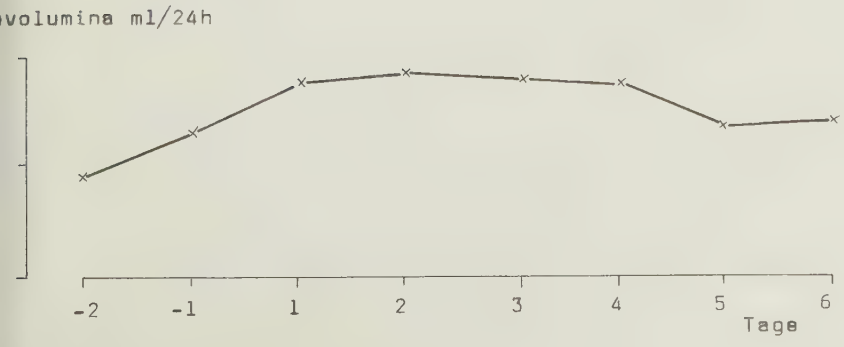


Abb. 5: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin der Vorperiode, der Applikationstage und der Nachperiode

24-h-Urin der Vorperiode, der Applikationstage und der Nachperiode
Proband K.,W.



Die vorliegenden Ergebnisse wurden durch den immunologischen Nachweis bestätigt. Das Harnkonzentrat der Lamoxactam-Studie zeigte entsprechend der niedrigen AAP-Aktivitäten schwach anfärbbare Banden.

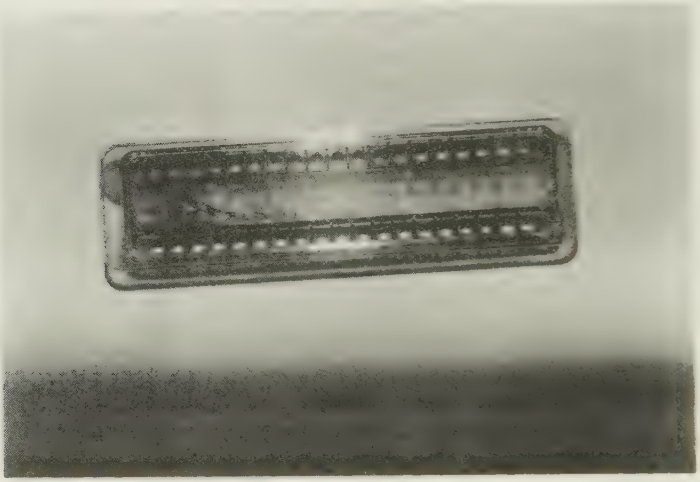


Abb. 4: Eindimensionale Elektroimmundiffusion nach Laurell:

Vor der Applikation:	Depot 10, 11
Während der Applikation:	Depot 12 bis 14
Nach der Applikation:	Depot 15 bis 17
1:25 verdünnte Standard-AAP-Lösung	Depot 18
1:50 verdünnte Standard-AAP-Lösung	Depot 19

4.3.2 Harnvolumina und endogene Kreatinin-Clearence unter Lamoxactam

Die Meßergebnisse sind in den Tabellen 5 und 6 auf den Seiten 38 und 39 zusammengestellt. Die Mittelwerte der Harnvolumina und ihre Standardabweichungen in Abhängigkeit von der Applikation sind in Abbildung 4 (untere Kurve) graphisch dargestellt. Zusammenfassend sind folgende Aussagen möglich:

Die durchschnittlichen Harnvolumina ergaben keine Abhängigkeit von der Lamoxactam-Gabe. Das niedrigste mittlere Volumen repräsentierte der Tag zwei mit 1230 ml/24h, den höchsten Wert der Tag -2 mit 1592 ml/24h. Der maximale Einzelwert betrug 2440 ml/24h (Proband D.,J., 29 J.) am Tag -2, der niedrigste 640 ml/24h (Proband D.,J., 28 J.) am Tag zwei.

Ebenso blieb die endogene Kreatinin-Clearence von der Lamoxactam-Gabe unbeeinflußt.

Tag ml/24h

Name	-2	-1	1	2	3	4	5	6
S.,M. m 30 J.	1770	1310	1260	1010	1280	1180	1280	1890
O.,H. m 26 J.	1720	1320	1000	1330	1420	2100	1760	1800
D.,J. m 2[illegible] J.	2440	2240	1900	1040	1340	1140	880	2080
P.,P. m 27 J.	1500	1480	1870	1300	1820	1790	1770	1200
D.,J. m 2[illegible] J.	1730	1240	800	640	910	1130	1260	1000
T.,J. m 28 J.	1710	820	1720	1540	1080	1760	1290	1600
[illegible],J. m 27 J.	1520	1530	1960	980	2100	1190	1360	1860
Z.,S. m 27 J.	1740	1840	930	1820	2100	1020	940	1870
B.,T. m 23 J.	880	640	1270	780	1300	1180	800	910
K.,J. m [illegible]3 J.	910	1260	1770	1860	1810	1760	1330	1400

Harn-vol.	-2	-1	1	2	3	4	5	6
$\bar{x}$	1521	1368	1448	1230	1516	1425	1267	1561
S	402	484	456	373	428	337	350	431
VK	26,3	35,4	31,5	30,3	27,4	27.1	27,6	27,6
$\sum$	15920	13680	1448	12300	15160	14250	12670	15610

Tabelle 5: Harnvolumina in ml/24h vor, während und nach dreimaliger Applikation von Lamoxactam

$\sum$ = Summe der Harnvolumina S = Standardabweichung
$\bar{x}$ = Mittelwert in mU/24h VK = Variationskoeffizient

Lamoxactam-Studie Endogene Kreatinin-Clearence

Name	ml/min		
	Tag -1	2	6
S.,J. m 30 J. 184 cm 75 kg	147	117	15[illegible]
D.,J. m 29 J. 179 cm 70 kg	115	105	74
O.,H. m 26 J. 172 cm 73 kg	1[illegible]	[illegible]	1[illegible]
P.,P. m 27 J. 177 cm 82 kg	123	[illegible]	[illegible]
T.,J. m 2[illegible] J. 187 cm 70 kg	13[illegible]	72	1[illegible]4
Z.C., m 27 J. 174 cm 7[illegible] kg		12[illegible]	13[illegible]
J.,J. m 2[illegible] J. 194 cm 71 kg	145	103	[illegible]4
S.,W. m 27 J. 181 cm 81 kg	7[illegible]	1[illegible]	11[illegible]
B.,T. m 23 J. 183 cm 71 kg	100	67	9[illegible]
K.,J. m 23 J. 180 cm 75 kg	115	121	101

Tabelle 6: Ergebnisse der endogenen Kreatinin-Clearence: Werte des 2. Leerwerttages, des 2. Applikationstages von Lamoxactam und des 3. Tages nach der Applikation

4.4 Verträglichkeit der Antibiotika

4.4.1 Auswirkungen der Cefradin-Applikation

Die lokale Verträglichkeit war bei allen 13 Probandinnen durch die Applikationsart in Form einer Kurzinfusion gut. Fünf der 13 Probandinnen zeigten in jeder Hinsicht einen komplikationslosen Verlauf. Es traten keinerlei Zeichen von Unverträglichkeit auf.

Leichte Begleiterscheinungen wiesen die folgenden vier Probandinnen auf, ohne allerdings subjektive Beschwerden zu haben.

Probandin	Urinbefund	Zeitpunkt
W.,C. 22 J.	Eiweiß - Spur	nur am 1. und 2. Applikationstag
S.,B. 25 J.	Eiweiß - Spur	nur am 9. Tag der Versuchsdauer(Tag 7)
G.,A. 36 J.	Mikrohämaturie Blut +	nur am 9. Tag der Versuchsdauer(Tag 7)
K.,M. 22 J.	Eiweiß - Spur Mikrohämaturie	am 3. Applikationstag
	Mikrohämaturie	am 6. und 7. Tag der Versuchsdauer (Tage 4 und 5)
		8. Tag der Versuchsdauer (Tag 6) ohne Befund
	Eiweiß - Spur Mikrohämaturie	am 9. Tag der Versuchsdauer (Tag 7)

Probandin W.,D. 33 J. hatte während der Versuchsdauer keine Beschwerden und keinen pathologischen Urinbefund. Ungefähr eine Woche später traten jedoch Schmerzen in der Nierengegend und in der Blase auf. Der Urinbefund wies eine Mikrohämaturie nach. Eine spätere Kontrolle verlief ohne Befund.

Alle weiteren Nierenfunktionsparameter blieben bei diesen fünf Probandinnen ohne pathologischen Befund.

Zum Versuchsabbruch kam es bei drei Probandinnen, die aus diesem Grunde auch in der Gesamtwertung keine Berücksichtigung fanden.

Probandin	Nebenwirkung
H.,G. 28 J.	Am 1.Tag der Nachperiode (Tag 4) trat eine Makrohämaturie auf, verbunden mit Schmerzen beim Wasserlassen, Schlappheitsgefühl und Unwohlsein im Magen. Diffuser Juckreiz, flüchtig, ohne Exanthem.
Urinbefund:	Eiweiß-Spur, positiver Blutnachweis. Nach 2 Tagen zeigte sich wieder ein normaler Urinbefund und eine Normalisierung des Allgemeinzustandes. Keine pathologischen Nierenfunktionsparameter.
I.,G. 29 J.	Hier erfolgte der Versuchsabbruch nach der 1. Applikation. Verlauf: 30 Minuten nach dem Infundieren von Cefradin kam es zu Schweißausbruch, Uebelkeit, Schmerzen in der Blasengegend, in den linken Ureter aufsteigend. Zunehmende Beschwerden, die bis zum Erbrechen führten.
Urinbefund:	Eiweiß +++ Makrohämaturie Keton + Nach der Gabe eines Spasmolytikums und verstärkter Flüssigkeitsaufnahme besserte sich der Zustand. Zwei Tage später war der Urinbefund wieder normal.
W.,M. 25 J.	Versuchsabbruch nach der 2. Applikation. Verlauf: Schmerzbeginn eine Stunde nach Injektion mit zunehmender Tendenz und zwar im Bereich der Blase, der Ureter, verbunden mit Pollakisurie und Dysurie. Beide Nierenlager waren klopfschmerzhaft. Es traten Uebelkeit, Erbrechen und eine Kreislaufschwäche auf. Vorübergehende Besserung nach Spasmolytika-Gabe. Am nächsten Tag verschlech-

	terte sich der Zustand, so daß eine Infusionstherapie mit Diureseverbesserung nötig wurde. Weitere Untersuchungen: Abdomenübersicht und Nierenleeraufnahmen: kein Hinweis auf Konkremente.
Urinbefund:	Eiweiß positiv massenhaft Erythrozyten
Blut:	Kreatinin 2,2 mg/dl Leukozyten 14600 cm^3
	Nach der Infusionstherapie besserte sich der Allgemeinzustand, und die Probandin hatte auch subjektiv keine Beschwerden mehr.
Urinbefund:	negativ
Blut:	Leukozyten 7300 cm^3 Kreatinin 0,8 mg/dl

In den folgenden drei Tabellen sind die AAP-Ausscheidungen, die Harnvolumina und die endogene Kreatinin-Clearence der letzten drei Probandinnen zusammengestellt. Abbildung 6 auf Seite 44 zeigt die täglichen AAP-Meßwerte und die täglichen Harnvolumina der Probandin D.,M., bei der die größten Unverträglichkeiten auftraten.

	Tag								mU/24h
Name	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7
D.,M. w 25 J.	1614	1479	1611	2215	5002	2974	2528	3461	2740
T.,G. w 29 J.	1567	1746	-	5814	1649	1733	1713	-	-
H.,G. w 28 J.	1218	1499	1629	2153	1954	-	1590	1625	3699

Tabelle 7: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin der Probandinnen, bei denen aufgrund von Nebenwirkungen die Versuchsreihe unvollständig beendet werden mußte

Name	Tag ml/24-h-Urin								
	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7
H.,G. w 28 J.	940	780	960	1140	940	-	940	1000	1450
T.,G. w 29 J.	1240	960	-	-	1340	1300	1050	-	-
D.,M. w 25 J.	260	750	1040	800	2560	1550	1580	1950	1500

Tabelle 8: Harnvolumina der Probandinnen, bei denen aufgrund von Nebenwirkungen die Versuchsreihe unvollständig beendet werden mußte

Name	Tag ml/min		
	-1	1	7
D.,M. w 25 J. 163 cm 61 kg	110	90	95
T.,G. w 29 J. 162 cm 45 kg	90	-	-
H.,G. w 28 J. 165 cm 62 kg	72	91	65

Tabelle 9: Endogene Kreatin-Clearence der Probandinnen, bei denen aufgrund von Nebenwirkungen die Versuchsreihe unvollständig beendet werden mußte.

Alanin-Amino-Peptidase (AAP) im 24-h-Urin

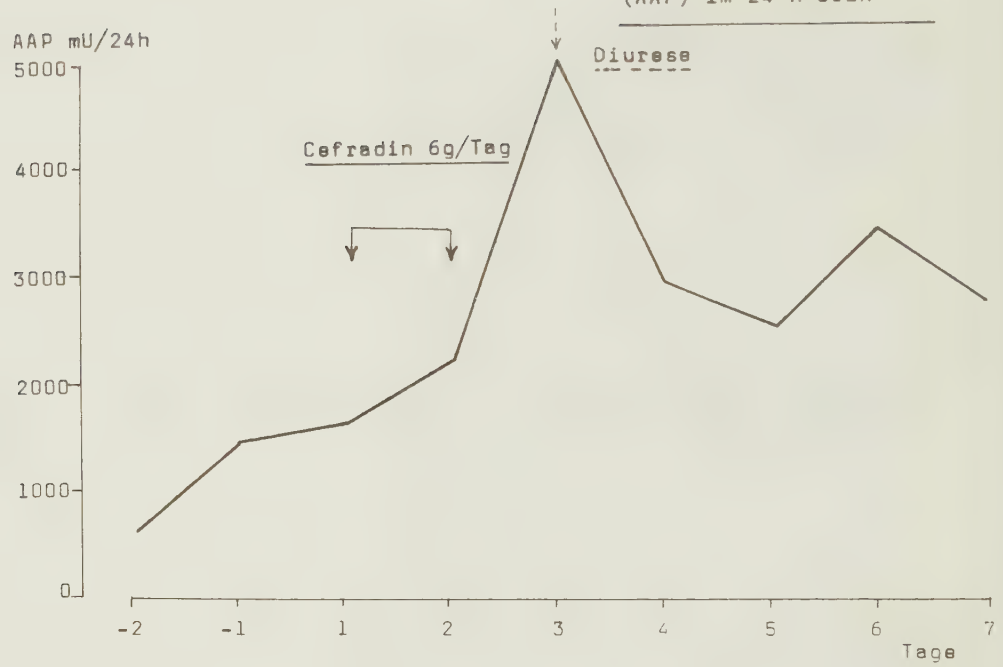
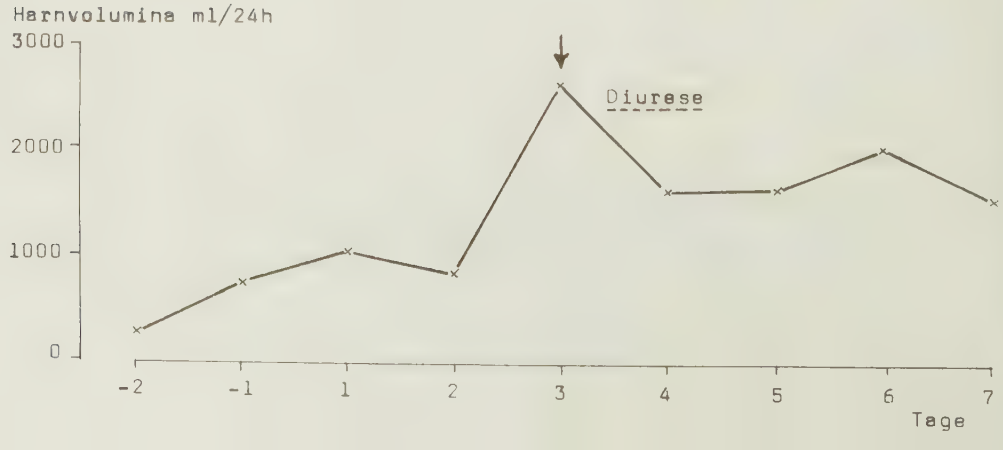


Abb. 6: AAP-Ausscheidung im 24-h-Urin und 24-h-Harnvolumina der Probandin D.,M.



4.4.2 Auswirkungen der Lamoxactam-Applikation

Lamoxactam wurde im allgemeinen gut vertragen. Ein Proband hatte keinerlei Beschwerden. Neun Probanden berichteten über nach der 2. Injektion auftretende Veränderungen der Stuhlkonsistenz. Der Stuhl wurde für 2 bis 3 Tage weich bis breiig.

Ein Proband klagte über Schlappheit und Müdigkeit, ein weiterer über Kopfschmerzen. Am letzten Tag der Studie fühlten sich alle Probanden wieder wohl.

Die lokale Verträglichkeit war in allen Fällen gut. Es traten bei keinem der Probanden allergische Erscheinungen auf, noch veränderten sich die Leberfunktionsparameter.

5. Diskussion

5.1 Die AAP als "frühe Phase-Parameter" zur Feststellung von tubulären Nierenschädigungen

Während Enzymaktivitäten aus dem Serum in der medizinischen Diagnostik eine nicht mehr wegzudenkende Bedeutung erlangt haben, galt dies für Harnenzyme nur in sehr beschränktem Maße.

Die Schwierigkeit bestand in der Interpretation der Ausscheidungsveränderungen. Kinetische Bestimmungen ließen eine Unterscheidung von glomulärer Filtration oder tubulärer Sekretion nicht zu. Unter den näher untersuchten Harnenzymen nimmt die Alanin-Amino-Peptidase aufgrund folgender Merkmale eine Sonderstellung ein:

- Sie ist fast ausschließlich an der Membranoberfläche des proximalen Tubulus lokalisiert.
- Ihr hohes Molekulargewicht schließt eine glomuläre Filtration aus.
- Sie wird auch bei Nierengesunden täglich durch laufende Membranumbauvorgänge im Sinne einer physiologischen Zellmauserung ausgeschieden.
- Die Ausscheidungswerte weisen eine geringe individuelle Schwankung auf.
- Ihre qualitative und quantitative Identifizierung ist mittels immunologischer und enzymatischer Nachweisverfahren möglich.
- Sie reagiert schon zu einem Zeitpunkt auf geringe Schädigungen der Tubulusmembran, während andere funktionelle Parameter wie Serumkreatinin und Kreatinin-Clearence noch unverändert bleiben.

Die AAP kann daher als "frühe Phase-Parameter" im Gegensatz zu den vorher genannten Parametern angesehen werden [28].

Andere Harnenzyme wie die Alkalische Phosphatase (AP) und die Gamma-Glutamyl-Transpeptidase (GGTP) zeigen kein so konstantes Ausscheidungsmuster. Die AP stammt nur teilweise aus der Tubulusmembran, die GGTP findet sich außer am proximalen Tubulus auch in den Henleschen Schleifen.

5.2 Diskussion der AAP-Ausscheidung unter Cefradin

Unter der Gabe von Cefradin in einer mittleren Dosierung von 6 g/Tag über einen Zeitraum von drei Tagen kam es zu unterschiedlichen Auswirkungen.

Fünf von 13 Probandinnen tolerierten die Applikation von Cefradin. Die AAP-Ausscheidung verhielt sich völlig indifferent und korrelierte mit den Harnvolumina. Lediglich eine Probandin hatte einen einmaligen geringen Anstieg der AAP, der am nächsten Tag wieder im Normbereich lag. Diesen Anstieg könnte man als Induktion bezeichnen, eine kurzfristige Erhöhung der AAP relativ rasch nach der Applikation. Im Gegensatz dazu werden nach Gabe von Aminoglykosiden Membranalterationen ausgelöst, und zwar durch die stetige Akkumulation des Antibiotikums in der Tubuluszelle.

Vier Probandinnen hatten subjektiv keine Beschwerden, jedoch Eiweiß im Urin und eine Mikrohämaturie. Zur gleichen Zeit verhielt sich die AAP-Ausscheidung unauffällig. Weitere Nierenfunktionsparameter blieben unbeeinflußt. Die Cefradin-Gabe wirkte sich in diesen Fällen möglicherweise in Form einer Schädigung der Glomerula und/oder einer Läsion der Blasenschleimhaut aus. Die Schädigung war kurzfristig und von reversiblem Charakter.

Die Erscheinungen der Probandin W.,D., die mit einer Verzögerung von Tagen nach Gabe des Antibiotikums auftraten, wären ebenfalls im Sinne einer Spätwirkung auf die Niere bzw. Blasenschleimhaut zu inter-

pretieren.

Aehnliche Erscheinungen wie in den vorangegangenen Fällen, nur in stärkerem Ausmaß, führten bei drei Probandinnen zum Versuchsabbruch. Bei der Probandin D.,M. kann eine Schädigung der Glomerula angenommen werden, es traten Kreatinin-Erhöhungen und eine Makrohämaturie auf, verbunden mit Schmerzzuständen. Die AAP-Ausscheidung zeigte keine signifikante Erhöhung, wohl war ein Anstieg an den Tagen mit forcierter Diurese zu verzeichnen. Wie in den vorangegangenen Fällen hatten die Nebenwirkungen reversiblen Charakter.

In Anbetracht dieser doch eingreifenden Nebenwirkungen bei nierengesunden Probanden sollte die Indikation zur intravenösen Gabe von Cefradin mit Vorsicht gegeben werden.

Von einer möglichen Kombination mit anderen Antibiotika, z.B. Aminoglykosiden, deren Wirkungen auf die proximalen Tubuli bekannt sind, muß abgeraten werden.

5.3 Diskussion der AAP-Ausscheidung unter Lamoxactam

Die dreimalige Applikation von Lamoxactam in der Dosierung von 2 X 2 g/Tag zeigte ein fast indifferentes Verhalten auf den proximalen Tubulus. Die AAP-Ausscheidung stieg lediglich bei vier Probanden geringfügig und kurzfristig an. Außerdem korrelierte die AAP-Aktivität uneingeschränkt mit den Harnvolumina.

Alle weiteren Nierenfunktionsparameter wiesen keinerlei Zeichen einer Nierenschädigung nach.

Alle bisherigen Untersuchungen mit Lamoxactam betreffen vornehmlich den möglichen Einsatz dieses Cephalosporins bei unterschiedlichen Erregern und im Vergleich mit anderen Antibiotika.

Die tierexperimentellen Untersuchungen an Ratten, Hunden und Affen ergaben keine signifikante systemische Toxizität.

Die vorliegende Untersuchung über das Verhalten der Alanin-Amino-Peptidase unter Lamoxactam an nierengesunden Probanden ergab keine faßbare tubulo-toxische Wirkung. Es kann deshalb angenommen werden, daß die klinische Verwendung von Lamoxactam ohne größere Bedenken zu vertreten ist.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung eines Oralcephalosporins und eines Oxabetalactam-Antibiotikums auf den proximalen Tubulus der menschlichen Niere untersucht.

In zwei Versuchsreihen, bestehend aus 13 weiblichen und 10 männlichen Probanden, wurden dreitägig 2X3 g Cefradin und 2X2 g Lamoxactam intravenös verabreicht. In der zweitägigen Vorperiode, an den Applikationstagen und in der 3- bzw. 4-tägigen Nachperiode wurde die Alanin-Amino-Peptidase (AAP), ein Leitenzym der Bürstensaummembran des proximalen Tubulus der menschlichen Niere im 24-h-Urin bestimmt bzw. im Harnkonzentrat immunologisch nachzuweisen versucht.

Beide, Cefradin und Lamoxactam, zeigten auf den proximalen Tubulus keine signifikante Wirkung. Unter Cefradin traten bei drei Probandinnen so schwerwiegende Nebenwirkungen auf, die zum Versuchsabbruch führten; bei 10 Probandinnen konnte die Studie beendet werden.

In allen Fällen hatten die Nebenwirkungen reversiblen Charakter. Unter Lamoxactam kam es in keinem Fall zu einer Beeinträchtigung funktioneller Parameter.

7. Literaturverzeichnis

1) Abraham, E.P.
Nachfahren des Penicillins: vielseitig und hochwirksam.
Spektrum der Wissenschaft, 1981.

2) Adam, D., Hofstetter, A.G., Jacoby, W., Reichardt, B.
Untersuchungen über die Diffusion von Cefradin und Cefalotin im menschlichen Gewebe.
9th International Congress of chemotherapy 1975.

3) Adam, D.
Untersuchungen über die Stabilität von Cefradin in Infusionslösungen.
Mün. med. Wch. 44, 1945-1950, 1974.

4) Becker, Dr. V., Gutensohn, G.
Therapeutische Mitteilung über die antibakterielle Wirksamkeit von Cefradin bei der Behandlung von Harnwegsinfekten.
Therapie Woche 23, 47, 1973.

5) Bergmann, H., Truss, F.
Harnenzyme als Indikator tubulärer Nierenschäden.
Med. Welt 34, 1760-1764, 1964.

6) Bergmann, H., Scheler, F.
Der Nachweis tubulärer Funktionsstörungen der Niere durch Bestimmung der Aminopeptidase-Aktivität.
Klin. Wschr. 42, 275-279, 1964.

7) Bernardus, H.
Untersuchung der Aktivität der Alanin-Amino-Peptidase im Harn zur Frage der Nephrotoxozität von Mezlocillin, Piperacillin und Dibekacin.
Med. Diss., Frankfurt 1981.

8) Breier, J.
Untersuchungen über die Wirkung der Aminoglykoside Gentamicin und Tobramycin auf die Enzyme des proximalen Tubulus der menschlichen Niere.
Diss. Uni-Ffm. 1979.

9) Burchardt, U.
Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung mit dem Harn und osmotische Nephropathie.
Innere Med. 30, 65-69, 1975.

10) Carling, C.P., Idelson, B.A., Casano, A.A., Alexander, E.A., McCabe, W.R.
Nephrotoxicity associated with cephalothin administration.
Arch. Intern. Med. Vol. 135, 797-801 (1975).

11) Clinical Investigation Manuel Eli Lilly and Company.
Indianapolis, Indiana.

12) Cox, C.
Referat zu Harnwegsinfektionen.
FDA Anti-Infective Agents Advisory Committee,
October 1973.

13) Haschen, R.J.
Alanin-Aminopeptidasen, Biochemie und diagnostische Bedeutung.
Wissenschaftliche Beiträge der Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg 1972/4.

14) Höffler, D., Koeppe, P.
Zur Pharmakokinetik intravenös applizierten Cefradins.
Mün. med. Wschr. 27, 1169-1174, 1975.

15) International Symposium 1981,
A new generation of beta-lactam antibiotics.

16) Israel, K.S., Black, H.R., Griffith, R.S., Brier, G.L., Wolny, J.D.
Pharmacology of Ly 127935 in man.
Lilly Laboratory for Clinical for Research Wishard Memorial.
Hospitel Indianapolis, Indiana 46202 U.S.A.

17) Jösch, W. und Dubach, U.C.:
Einfluß der Diurese auf die Enzymurie.
Clin. Chim. Acta 15:325-330, 1967.

18) Klaus, D.
Ueber Aminopeptidasen im menschlichen Organismus.
Aerztl. Forschung 9-17, 1962

19) Klose, J.
Untersuchungen der Ausscheidung von Leitenzymen des proximalen Tubulus der menschlichen Niere im 24-h-Urin unter Gabe von Cephalotin, Cephazolin und Fosfomycin.
Diss. Uni-Ffm. 1980

20) Knothe, H., Dette, G.A.
Antibiotika in der Klinik.
Aesopulus-Verlag 1980

21) Laurell, C.B.
Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarosegel containing antibodies.
Analyt. Biochem. 15, 45, 1966

22) Laurell, C.B.
Electrophoretic and electroimmochemical analysis of proteins.
Universitets Forlaget, Oslo, 1972

23) Linton, A.L., Bailey, R., Turnbull, D.J.
Relative nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics in an animal model.
C.M.A. Journal 107, 414-416 (1972)

24) Michael, J.
Klinische Erfahrungen mit Sefril.
Die Med. Welt 25, 869-870, 1974

25) Michel, C.F., Knothe, H., Lauer, B., Werner, E.
Konzentration von Cephradin und Cephalotin im Serum und in der Uterusmuskulatur.
Sonderdruck Geburtshilfe und Frauenheilkunde 35, 24-27, 1975

26) Mondorf, A.W.
Der Nachweis tubulärer Proteine im Harn bei entzündlichen und toxischen Nierenschädigungen
Wiener med. Wschr. 45, 20-30 (1975).

27) Mondorf, A.W.
Die Bedeutung lokalisationsspezifischer Enzyme im Harn für toxikologische und klinisch pharmakologische Untersuchungen.
Arzneimittelforschung 23, 1634-1637 (1973)

28) Mondorf, A.W.
Harnenzyme, Charakterisierung und diagnostische Anwendung.
Mün. Med. Wochenschrift, Editorial 1981

29) Mondorf, A.W.
Das Auftreten von Membranproteinen im Harn bei Erkrankungen der Niere.
Arzneimittelforschung 25, 274, Drug. Res. 1975

30) Mondorf, A.W., Zegelmann, M., Klose, J., Maske, L., Scherberich, J.E., Stefanescu, T., Müller, H., Schoeppe, W.:
Effect of various cephalosporins on the proximal tubule of human kidney.
Europ. J. Clin. Pharmacol. 13:357-363, 1978

31) Mondorf, A.W., Kinne, R., Scherberich, J.E., Falkenberg, F.,
Isolierung, enzymatische und immunologische Charakterisierung einer Plasmamembranfraktion vom proximalen Tubulus der menschlichen Niere.
Clin. Chim. Acta 37, 25-32 1972

32) Mondorf, A.W., Mackenrodt, G., Scherberich, J.E., Lauer, K., Zarifi, N., Schoeppe, W.,
Ausscheidungsmuster von Zellmembranprotein aus dem proximalen Tubulus bei Pyelonephritis und toxischer Nierenschädigung.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 1974, 777-779

33) Mondorf, A.W., Zegelmann, M., Klose, J., Maske, L., Scherberich, J.E., Stefanescu, T., Müller, H. und Schoeppe W.
Untersuchungen von verschiedenen Cephalosporinen in ihren Wirkungen auf den proximalen Tubulus der menschlichen Niere.
European Journal of Clinical Pharmacology 1978,

34) Mondorf, A.W., Zegelman, Max.,Mackenrodt, G.
Die klinisch-diagnostische Bedeutung lokalisationsspezifischer Enzyme im Harn.
Infection 4, 269-271 1976

35) Mondorf, A.W., Carpenter, C.B., Scherberich, J.E., Merrill, J.P.
Immunologischer Nachweis von Membranproteinen des proximalen Tubulus als Parameter für die akute Abstoßungsreaktion nach allogener Nierentransplantation beim Menschen.
Verh. dtsch. Ges. Inn. Med. 70 (1973) 690 892

36) Mondorf, A.W.,
Der Nachweis tubulärer Proteine im Harn bei entzündlichen und toxischen Nierenschädigungen.
Wiener med. Wschr. 45, 20-30, 1975

37) Mondorf. A.W., Breier, J., Hendus, J., Scherberich, J.E., Mackenrodt, G., Shah, P.M., Stille, W., Schoppe, W.
Wirkungen der Aminoglykoside auf den proximalen Tubulus der menschlichen Niere.
European Journal of Clin. Pharm. 1978

38) Moxalactam (Lamoxactam-Dinatrium)
Ly 12 79 35, Lilly

39) Naber, K.
Experimentelle und klinische Untersuchungen mit Celospor bei Nierenerkrankungen.
Wiener med. Wschr. 45, Suppl. 27 (1975)

40) Naber, K., Sauerwein, D., Weidemann, H., Heinmöller, G.
Nierenlymphkonzentration von Cephalosporinderivaten.
Int. J. clin. Pharmacol. 8, 111-117, 1974

41) Pasternak, C.P., Stevens, B.G.
Reversible nephrotoxicity associated with cephalothin therapy.
Arch. Intern. Med. 135, 599-602 (1975)

42) Perjés v., O.C.
Klinische Untersuchung des neuen Cephalosporin-derivates Cefradin.
Med. Welt 25, 1564-1568, 1974

43) Peters, J., Rehfeld, N., Breier, L., Haschen, R.J.
Immunologische Charakterisierung der Isoenzyme der Alanin-Amino-Peptidase.
Clin. Chem. Acta 19, 1968

44) Raab, W.
Die diagnostische Bedeutung der Bestimmung von Harnenzymaktivitäten.
Chem. und klin. Biochemie 1971, 143-154

45) Richmond, M.H.
β-Lactam-Antibiotics.
The background to their use as therapeuties agents.
Bristol, Höchst AG, 1981

46) Sack, K.
Tierexperimentelles Modell zur Testung der Nephrotoxizität von Antibiotika.
Loc. cit. 123

47) Sauerwein, D., Naber, K.
Renale Tolerance u. Clearence von Cephazolin.
Int. J. clin. Pharmacol. 8, 102-110/1974

48) Scherberich, J.E., Falkenberg, F., Mondorf, A.W., Müller, H., Pfleiderer, G.
Biochemical and immunological studies on isolated brush border membranes of human kidney and their membrane surface proteins.
Clin. Chim. Acta 55, 179-197, 1974

49) Scherberich, J.E., Mondorf, A.W.
Immunochemical studies on membrane surface proteins of human kidney by Con-A-affinity chromatography.
Prot. Biol. Fluids 23, 575 1975

50) Schmidt, G.
Cephalosporine.
Chemie in unserer Zeit, 10. Jahrgang,
189-195 (1976)

51) Shah, P.H.
Klinischer Einsatz der neuen Cephalosporine.
Klinikarzt 1979/3

52) Silverblatt, F., Harrison, W.O., Truck, M.
Nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics
in experimentell animals.
J. Infect. Dis. 128 (Suppl.) 367, (1973)

53) Simon, C., Stille, W.
Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis.
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart 1979

54) Spitzy, K.H.
Die Bedeutung der Cephalosporine im Rahmen
der Antibiotika.
Wiener med. Wschr. 45, 4-6 (1975)

55) Spitzy, K.H.
Blut- und Gewebespiegel als Parameter für eine
quantitative Chemotherapie.
Infektion 2, 1974, 218-219

56) SQUIBB-Pharma v. Heyden, München
Sefril ^{R} und Eiweißbindung, 1974, 1975

57) SQUIBB-Pharma
Dokumentation Cefradin - Cefracetril, 1976

58) SQUIBB-Pharma
Dokumentation Cefradin - Cefazolin, 1976

59) SQUIBB-Pharma
Dokumentation Cefradin-- Cefalotin, 1976

60) Stille, W.
Antibiotika- Kombinationstherapie bei schweren
akuten Infektionen.
Klinikarzt 8/1979

61) Stammberger, K., Pfaffenberg, R., Thulin, H.
Alaninaminopeptidase- und Lysozymausscheidung
im Urin von Diabetikern.
Ber. Gs. Inn. Med. 9: 50-51 (1974

62) Tauchwitz, Ch.
Klinische Erprobung von Cephazolin und Cephradin.
Med. Klinik, Karl-Marx-Universität Leipzig

63) Zegelmann, M.
Untersuchungen der Harnaktivitäten dreier Leitenzyme des proximalen Tubulus der Niere zur Frage der Nephrotoxizität von Cephacetril, Cephalotin und Cephazolin.
Inauguraldissertation Frankfurt am Main 1977

Lebenslauf

1949	am 9.4. geboren als Tochter des verstorbenen Dr.agr. Ernst Rosefeldt und seiner Ehefrau Renate, geb. Bockhorn in Eutin, Schleswig/Holstein
1955	Grundschule Kreutzfeld
1960-66	Realschule Eutin
1967-70	Ausbildung zur Krankenschwester am St.-Markus-Krankenhaus in Frankfurt/Main
1971-73	Abiturvorbereitung
1973	Erlangung der allgemeinen Hochschulreife
1973-74	Lehramtsstudium für Biologie
1976-77	Beginn des Medizinstudiums mit Anrechnung von zwei Semestern
1978	März, Aerztliche Vorprüfung
1979	März, 1. Abschnitt der Aerztlichen Prüfung
1981	März, 2. Abschnitt der Aerztlichen Prüfung
1981	April, Beginn des Praktischen Jahres an den Städtischen Kliniken in Frankfurt-Höchst mit dem Wahlfach Neurologie
1982	April, 3. Abschnitt der Aerztlichen Prüfung

Frankfurt am Main, im April 1982

Christiane Rosefeldt

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

"Untersuchungen zur Nephrotoxizität der Cephalosporine Cefradin und Lamoxactam durch Messung der Alanin-Amino-Peptidase-Aktivität im Harn"

im Zentrum der Inneren Medizin der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Prof. Dr.med. A.W. Mondorf ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich Humanmedizin ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 21. 6. 1982

Christiane Fassbender